

Aplikasi Iradiasi Gamma untuk Pemuliaan Mutasi Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* Bl.) Umur Genjah

Gamma Irradiation Application for Mutation Breeding in Early Flowering Moth Orchid (Phalaenopsis amabilis Bl.)

Sasanti Widiarsih dan Ita Dwimahyani

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49 Jakarta Selatan 12440
Email : widiarsih@yahoo.com

Diterima 17 Januari 2013; Disetujui 01 Mei 2013

ABSTRAK

Aplikasi Iradiasi Gamma untuk Pemuliaan Mutasi Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* Bl.) Umur Genjah. Anggrek bulan merupakan puspa pesona yang populer di Indonesia. PATIR-BATAN menerapkan teknik mutasi sebagai alternatif terhadap metode persilangan untuk memperkaya keragaman genetik dalam rangka memperoleh varietas tanaman hias yang unggul. Penelitian ini dilakukan sejak bulan Januari 2011. Materi tanaman berupa plantlet kultur jaringan *Phalaenopsis amabilis* siap tanam dari Lab. Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor, dan diiradiasi dengan sinar gamma masing-masing dengan dosis 0, 5, 10, 15, 20, dan 25 Gy. Plantlet diaklimatisasi pada media pakis cacah steril selama 3 minggu, kemudian dipindahkan ke pot individu dan dipelihara di rumah kaca Kebun Percobaan Pasar Jumat, Jakarta Selatan. Pada usia 13 bulan (Februari 2012) didapati satu tanaman dengan dosis iradiasi 25 Gy yang menunjukkan tanda-tanda pembungaan. Sekitar lima minggu kemudian, kuntum bunga mulai mekar. Warna dan bentuk bunga hampir sama dengan bunga tanaman induk dengan diameter bunga 8 cm. Mengingat tanaman anggrek bulan umumnya membutuhkan waktu lebih dari dua tahun sejak masa aklimatisasi hingga memasuki masa generatif, dan khususnya genus *Phalaenopsis* lebih rajin berbunga di dataran tinggi, maka temuan mutan anggrek bulan berumur genjah ini merupakan indikasi yang menjanjikan. Observasi lebih lanjut masih diperlukan terhadap kestabilan karakter mutan pada generasi berikutnya.

Kata kunci : anggrek bulan, iradiasi gamma, mutasi, umur genjah

ABSTRACT

Gamma Irradiation Application for Mutation Breeding in Early Flowering Moth Orchid (*Phalaenopsis amabilis* Bl.). Moth orchid is the popular national flower of Indonesia. CAIRT-NNEA has applied mutation techniques as an alternative to conventional crossings for broadening genetic diversity in order to obtain superior ornamental plant varieties. The experiment was conducted since January 2011. The materials used were ready-to-plant in-vitro plantlets of *Phalaenopsis amabilis* from Plant Conservation Laboratory, Bogor Botanical Garden, and irradiated by gamma rays at the doses of 0, 5, 10, 15, 20, and 25 Gy respectively. Plantlets were acclimatized on sterile fern stem medium for 3 weeks, and then transferred to individual pots and maintained in the greenhouse on Pasar Jumat, South Jakarta. After 13 months (February 2012) there was one individual plant with treatment dose of 25 Gy which developed one flower spike. Five weeks later, the flowers started to open. The flower color and shape is almost similar with the wild type with flower diameter of 8 cm. Most orchid plants takes more than 2 years to grow from acclimatization to flowering stage, and especially most species of *Phalaenopsis* genus would flowers more readily in cooler region. Therefore, this early flowering mutant has a promising potential. Further observation will be needed for this new character stability on the next generation.

Key words : moth orchids, gamma irradiation, mutation, early flowering

PENDAHULUAN

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.) merupakan puspa pesona dan salah satu bunga nasional Indonesia. Spesies ini merupakan spesies pertama dalam genus *Phalaenopsis* yang ditemukan oleh Dr. C. L. Blume. Sebagai anggrek yang sangat populer di seluruh dunia pada beberapa tahun terakhir [1], *Phalaenopsis* merupakan anggrek yang memiliki manfaat dan nilai ekonomi yang tinggi karena dapat digunakan sebagai induk persilangan, koleksi, bunga potong, dan penghias ruangan maupun taman.

WANG [2] menyatakan bahwa produksi domestik dan impor anggrek ini meningkat pesat. Seiring dengan meningkatnya stok materi yang semakin murah dan meningkatnya permintaan pasar, anggrek ini sekarang ditanam bersama-sama dengan tanaman bunga tradisional lainnya.

Metode pemuliaan konvensional melalui persilangan dan seleksi telah membuka jalan bagi pemulia untuk menciptakan varietas-varietas baru yang memiliki karakter yang diharapkan seperti warna, bentuk, aroma, bentuk tanaman, umur simpan (*shelf-life*) dan ketahanan terhadap hama dan penyakit, tetapi kemajuannya dibatasi oleh ketersediaan *gene pool* dari spesies yang bersangkutan. [3]. Mengingat *novelty* atau faktor kebaruan merupakan kekuatan pendorong dalam industri tanaman hias, CHEN *et al.* [3] juga menyatakan bahwa perakitan kultivar mutan telah menjadi faktor penting dalam pasar untuk produksi anggrek potensial.

Sejumlah penelitian sejenis menggunakan iradiasi sinar gamma telah dilakukan sebelumnya di UGM pada plantlet *Phalaenopsis amabilis* [4] maupun tanaman pot *Phalaenopsis aphrodite* di Cina [5]. Walaupun demikian, penelitian tersebut masih berfokus pada keragaman yang ditemui dalam populasi mutan, baik fenotipik [4] maupun molekuler [5].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek iradiasi sinar gamma terhadap kemampuan hidup tanaman

anggrek bulan sejak masa aklimatisasi hingga memasuki masa pembungaan, serta memperoleh mutan anggrek bulan berumur genjah. Diperolehnya mutan yang mampu berbunga dalam jangka waktu singkat (umur genjah) akan merupakan plasma nuftah yang potensial bagi pasar anggrek komersial.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2011 sampai Mei 2012, bertempat di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta Selatan. Materi tanaman berupa plantlet kultur jaringan *Phalaenopsis amabilis* siap tanam diperoleh dari Lab. Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Bogor, diiradiasi sinar gamma masing-masing dengan dosis 0, 5, 10, 15, 20, dan 25 Gy. Dalam penelitian pendahuluan telah diperoleh rekomendasi bahwa dosis optimal untuk iradiasi plantlet siap tanam anggrek bulan adalah di bawah 30 Gy [6]. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri atas 6 perlakuan dosis iradiasi dengan setiap dosis terdapat 4 botol (tiap botol berisi 8-12 plantlet) sebagai ulangan. Radiasi Sinar Gamma dilakukan dengan Iradiator Panorama Serba Guna (IRPASENA), yang berasal dari sumber Co 60 (laju dosis 42,07 Gy/jam dengan aktivitas 17.957.865 Ci).

Setelah diiradiasi, plantlet anggrek bulan diaklimatisasi dengan ditanam pada kontainer plastik dengan media tanam cacahan pakis steril halus selama 2 minggu. Setelah fisik tanaman kokoh, tanaman dipindahkan ke dalam kompot plastik hitam selama 2 minggu. Pemindahan berikutnya dilakukan pada umur 10 MST ke pot plastik berdiameter 12 cm, dengan media tanam campuran pakis cacah, arang kayu, serta kompos halus. Pada umur 1 tahun, tanaman dipindahkan lagi ke pot plastik hitam berdiameter 20 cm dengan media yang sama.

Pemupukan dilakukan dua kali seminggu dengan Hyponex biru 2%. Sejak

umur 4 bulan ditambahkan pupuk kompos halus setiap dua bulan, dan pada umur 10 bulan ditambahkan pupuk Dekastar. Mengingat anggrek lebih menyukai tempat teduh sebagai syarat hidupnya, ruangan *greenhouse* diberi paranet dengan intensitas 75% untuk mengurangi intensitas cahaya matahari yang masuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fase aklimatisasi merupakan masa peralihan dari kondisi serba terkontrol dan aseptik di dalam kultur jaringan ke kondisi

matahari 20-50% dan suhu berkisar antara 15-29 °C [8].

Pada Tabel 1 terlihat fluktuasi keberhasilan hidup tanaman anggrek bulan. Periode antara 2 hingga 10 MST masih merupakan masa aklimatisasi plantlet, dari data terlihat bahwa angka kematian terbesar terjadi pada tanaman dengan dosis 15 Gy (persentase hidup 35%). Pada saat bulan-bulan awal penelitian (hingga 10 MST), curah hujan serta kelembaban cukup tinggi. Tanaman yang baru dikeluarkan dari botol kultur jaringan biasanya memiliki kandungan air tinggi (*hyperhydricity*) serta belum memiliki lapisan lilin di sel-sel

Tabel 1. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap persentase hidup tanaman anggrek bulan

Dosis Iradiasi (Gy)	% Hidup		
	2 MST	10 MST	12 BST
0	100	90	80
5	100	60	40
10	100	95	90
15	100	35	33,3
20	100	60	13,3
25	100	85	26,7

luar ruangan. Pada umumnya tanaman yang baru dikeluarkan dari botol akan mengalami stress akibat perubahan lingkungan yang ekstrim. Kesuksesan proses aklimatisasi ini sangat dipengaruhi oleh daya vigor plantlet, suhu dan kelembaban lingkungan, kerusakan mekanis yang terjadi setelah pemindahan dan teknik aklimatisasi [7].

Iradiasi sinar gamma yang diberikan tidak menyebabkan kematian pada tanaman anggrek bulan sejak awal dikeluarkan dari botol, namun setelah tanaman dipindahkan ke *greenhouse* sudah mulai terlihat dampak pemberian dosis iradiasi sinar gamma. Cuaca selama penelitian juga memengaruhi tanaman. Pertumbuhan tanaman anggrek bulan dipengaruhi beberapa faktor, di antaranya suhu, kelembaban dan curah hujan. Anggrek bulan membutuhkan cahaya

epidermis terluar pada daun dan batang sebagai pelindung dari kondisi lingkungan ekstrim. Tanaman dengan perlakuan dosis 15 Gy mengalami intensitas serangan busuk terparah dari bakteri *Erwina carotovora*, hingga berdampak kematian bagi lebih dari setengah populasi tanaman. Semakin tinggi dosis iradiasi yang diberikan, umumnya dampak kerusakan fisiologis pada sel dan jaringan tanaman akan semakin besar, dan dapat menimbulkan efek terhambatnya pertumbuhan, malformasi, atau bahkan kematian tanaman [6]. Walaupun demikian, pada Tabel 1 terlihat bahwa pada dosis tertinggi (25 Gy) persentase hidup tanaman tetap tinggi, hanya sedikit di bawah tanaman kontrol.

Oleh karena itu, diduga bahwa perbedaan persentase hidup pada periode

awal hingga 10 MST lebih dipengaruhi faktor eksternal yaitu lingkungan tumbuh yang belum optimal dibandingkan akibat pengaruh dosis iradiasi. Setelah dipindahkan ke media campuran arang kayu dan pakis 1:1 yang menyediakan sirkulasi udara dan drainase yang lebih baik (10 MST), maka angka kematian akibat pengaruh lingkungan dapat ditekan.

Pada periode berikutnya yaitu masa pertumbuhan vegetatif (10 MST hingga 12 BST) kematian lebih banyak terjadi pada tanaman dengan dosis tinggi (20 dan 25 Gy). Dari hasil pengamatan, tanaman pada selang dosis ini banyak mengalami kematian pada titik tumbuh utama dan tidak mampu bertahan hidup. Pertumbuhan akar juga banyak yang terhambat, tanaman menjadi kerdil dan lama-kelamaan mengering. Walaupun demikian, dari sedikit tanaman yang mampu bertahan hidup pada dosis tinggi ini, terutama 25 Gy, menunjukkan pertumbuhan vegetatif yang kokoh, tidak kalah dari tanaman kontrol (Gambar 1).

berbentuk bulan sabit, kerdil, menebal atau melebar) namun sebagian besar perubahan itu bersifat sementara. Pada daun-daun yang muncul setelah itu sebagian besar kembali ke bentuk yang normal. Oleh karena itu, diduga bahwa perubahan bentuk daun yang sementara itu hanya respon kerusakan fisiologis sel dan jaringan sebagai efek iradiasi. Mutasi pada individu-individu tersebut hanya pada lapisan terluar titik tumbuh dan tidak terjadi pada inti titik tumbuh yang terus berdiferensiasi membentuk jaringan baru.

Dari pengamatan di lapangan, dari total 4 tanaman yang bertahan hidup hingga Januari 2012, ada dua tanaman pada dosis 20 Gy yang mengalami kematian pada titik tumbuh utama (tunas apikal). Namun, kedua tanaman tersebut mampu membentuk tunas-tunas samping yang kemudian terpisah menjadi individu baru. Dari satu tanaman menjadi tiga anakan baru dengan ukuran lebih kecil daripada tanaman induk tanpa anakan usia satu tahun.



Gambar 1. Pertumbuhan vegetatif *Phalaenopsis amabilis* pasca iradiasi gamma usia 1 tahun (dari kanan ke kiri : perlakuan dosis 0, 5, 10, 15, 20, dan 25 Gy).

Phalaenopsis merupakan tanaman CAM epifit monopodial yang memiliki daun sukulen. Daun-dannya tumbuh secara berseling (alternate) pada kedua sisi tanaman dengan batang yang sangat pendek [1]. Sejumlah tanaman hasil iradiasi menunjukkan perubahan morfologi pada daun, terutama hingga 10 MST (daun yang tumbuh tepat setelah perlakuan iradiasi). Perubahan yang teramati antara lain malformasi pada bentuk daun (menyempit,

Satu tanaman mutan dengan dosis perlakuan 25 Gy (galur OrA.12.25.9) menunjukkan tanda-tanda pembungaan (*spiking*) pada minggu kedua Februari 2012. Dalam satu tangkai terdapat 6 kuntum bunga, yang kemudian kuntum pertama mulai mekar pada satu bulan kemudian (Maret 2012). Bunga ketiga gugur tanpa mampu mekar (*aborted*), namun kelima bunga yang lain mampu bertahan mekar sampai dengan 4 Mei 2012. Setelah kelima

bunga awal layu, dari ujung tangkai bunga kemudian muncul kembali tiga kuntum bunga baru. Ketiga kuntum ini kemudian mekar dan mampu bertahan hingga 5 Juni 2012. Pada Gambar 2 dapat terlihat bahwa pada umur yang sama (13 bulan pasca aklimatisasi) tanaman anggrek bunga kontrol belum memasuki masa pembungaan, sedangkan tanaman mutan (sebelah kanan) sudah memasuki fase reproduksi dan mampu berbunga sempurna.

dari tanaman mutan OrA 12.25.9 disajikan dalam Tabel 2, dan gambar detail bunga dalam Gambar 3.

Sejumlah penelitian telah melaporkan bahwa berbagai faktor seperti genetik, faktor kimiawi, laju pertumbuhan, status nutrisi tanaman, termoperiod dan fotoperiod menentukan pembungaan pada anggrek, namun umumnya penelitian tersebut lebih berpusat pada level fisiologi dan bukan level molekuler [10]. Perilaku pembungaan



Gambar 2. Penampilan tanaman anggrek bulan kontrol/tanpa iradiasi (kiri) dan tanaman mutan dosis 25 Gy (kanan)

Mutan OrA.12.25.9 memiliki keunikan yaitu sejumlah daun menunjukkan gejala variegata dengan mutasi daun viridis (bergaris kuning) ataupun hijau muda (Gambar 2). Kemunculan daun variegata atau daun dengan campuran warna normal daun yang hijau dengan warna lain, baik putih (albino) ataupun kuning (viridis) menandakan terjadinya proses mutasi klorofil. Dalam pemuliaan mutasi pada berbagai komoditi, seperti padi, kemunculan mutasi klorofil pada sejumlah individu dalam satu populasi tanaman yang diberi perlakuan iradiasi menandakan keberhasilan dan efektivitas dosis iradiasi yang digunakan. Ringkasan data morfologi bunga

berbeda pada setiap jenis anggrek. Sejumlah spesies memberikan respon terhadap fotoperiod dan ada juga yang merespon hormon pengatur tumbuh [11]. Pada *Phalaenopsis*, aksilar setiap daun yang muncul terdapat satu tunas besar yang berpotensi reproduktif dan satu tunas kecil vegetatif. Ketika seluruh syarat fisiologi dan lingkungan terpenuhi, tunas reproduksi akan memanjang dan dapat mengarah ke pembungaan [2]. Suplai sukrosa yang berkesinambungan ke titik tumbuh tunas reproduksi merupakan faktor yang vital bagi keberlanjutan pembentukan bunga, baik terinduksi oleh intensitas cahaya tinggi, suhu rendah, ataupun giberelin [12].

Tabel 2. Ringkasan data morfologi bunga mutan *Phal. amabilis* OrA 12.25.9

No	Parameter	Keterangan
1.	Tangkai bunga	tangkai tunggal, semi-erect, panjang total 47 cm, panjang rangkaian bunga : 17,5 cm
2.	Diameter bunga	melintang : $8,1 \pm 0,3$ cm membujur : $7,1 \pm 0,2$ cm
3.	Sepal dorsal	putih solid, lanceolate-elliptic panjang $3,3 \pm 0,2$ cm, lebar $1,8 \pm 0,1$ cm
4.	Petal	putih solid, susunan petal terbuka. Obovate obtuse. panjang $3,8 \pm 0,4$ cm, lebar $3,4 \pm 0,2$ cm
5.	Sepal lateral	putih solid. Elliptic dengan sisi bawah datar. Sedikit terputar pada pangkal sepal. Panjang $3,7 \pm 0,4$ cm, lebar $1,6 \pm 0,1$ cm
6.	Bibir (labellum)	terdiferensiasi menjadi 3 keping. Kedua keping sisi tipe V, keping tengah tipe segitiga terbalik, melengkung agak ke dalam. Kedua keping sisi, paruh atas putih solid, dan separuh bawah kuning bintik kemerahan. Panjang labellum: $4,4 \pm 0,1$ cm
7.	Sungut (cirrhi)	kuning solid, ikal (curly). panjang $\pm 2,7$ cm
8.	Jumlah bunga dalam satu tangkai	6 kuntum (pembungaan I) + 3 kuntum (pembungaan II)

* Keterangan deskripsi mengacu pada panduan karakterisasi anggrek BALITHI [9]



Gambar 3. Penampilan bunga tanaman mutan *Phal. amabilis* OrA 12.25.9.

BLANCHARD dan RUNKLE [13] menyatakan bahwa suhu siang harilah yang menentukan pembungaan pada anggrek, bukan suhu malam hari. Mereka menemukan bahwa anggrek yang dipaparkan pada suhu siang 29°C selama 20 minggu tidak ada yang memasuki masa

pembungaan, baik dengan suhu malam rendah ataupun tinggi. Suhu terbaik pemicu pembungaan adalah $14 - 17^{\circ}\text{C}$ pada siang hari. Walaupun demikian, mutan OrA.12.25.9 mampu berbunga pada daerah Jakarta Selatan dengan rentang fluktuasi suhu harian berkisar antara $23 - 34^{\circ}\text{C}$

(BMKG), di mana kisaran ini sebenarnya berada di luar kondisi optimal pemicu pembungaan.

GLOVER [14] menyebutkan ada 4 *pathway* atau lintasan pengendali induksi pembungaan: vernalisasi, fotoperiod, giberelin dan otonomi. Lintasan fotoperiod dan vernalisasi menerima sinyal dari lingkungan. Lintasan otonomi menghantarkan sinyal endogen dari fase pertumbuhan yang sedang dijalani. Sebelumnya, ARDITTI [15] tidak menyertakan giberellin dalam 4 lintasan pengendali pembungaan, namun diduga gen-gen yang terlibat dalam biosintesis hormon dan transduksi sinyal hormon telah membentuk lintasan yang mempromosikan hormon tersendiri.

Salah satu gen vital yang berkaitan dengan peralihan fase dari vegetatif ke generatif adalah gen *LEAFY* (*LFY*). CHEN *et al* [3] berhasil mengklon gen *LFY* tersebut dari salah satu hibrida *Phalaenopsis*, dan disarankan bahwa fungsi gen tersebut dalam pembungaan dapat dipelajari lebih lanjut melalui transformasi gen ini ke dalam mutan *Arabidopsis* yang memiliki kerusakan pada *LFY*. Promotor dari *Phalaenopsis LFY* juga dapat dipelajari untuk memahami peranannya dalam induksi pembungaan dan perkembangan tanaman. Ada kemungkinan bahwa mutan OrA.12.25.9 ini dapat berbunga lebih awal karena mengalami perubahan atau mutasi pada gen *LFY* tersebut.

Mutan anggrek bulan berumur genjah OrA.12.25.9 merupakan plasma nuftah yang berpotensi besar untuk dikembangkan menjadi varietas baru. Walaupun ukuran bunganya relatif tidak besar (diameter bunga ± 8 cm) jika dibandingkan anggrek bulan hibrida, namun dapat dipasarkan sebagai anggrek bulan mini ataupun menjadi induk dalam persilangan terhadap berbagai kultivar anggrek sebagai donor karakter umur genjah. Keberhasilan untuk memperpendek masa vegetatif yang dibutuhkan pada perkebunan bunga komersial untuk membesarkan tanaman anggrek sejak aklimatisasi hingga usia siap

dipasarkan di masa mendatang akan sangat menguntungkan bagi para petani anggrek. Perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa perbanyakan massal melalui kultur *in-vitro*, kemudian pemurnian serta pengujian kestabilan karakter umur genjah dan kualitas bunga dari klon mutan anggrek tersebut sebelum siap dilepas sebagai kultivar baru.

KESIMPULAN

Telah diperoleh satu mutan anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) OrA.12.25.9 yang memiliki karakter umur genjah (*early flowering*) dan mampu berbunga pada usia 13 bulan sejak aklimatisasi. Karakter bunga, dari segi warna dan bentuk hampir sama dengan tipe aslinya. Mutan ini potensial untuk dipasarkan sebagai anggrek bulan mini ataupun menjadi induk persilangan sebagai donor karakter umur genjah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Yulidar (PATIR-BATAN) dan Sdri. Nurlaila Maulidiah (Universitas Muhammadiyah Jakarta) atas bantuan teknis di lapangan selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. LIN, M.J., and HSU, B.D. Photosynthetic plasticity of *Phalaenopsis* in response to different light environments. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1259–1268. (2004).
2. WANG, Y.T. *Phalaenopsis* Orchid light requirement during the induction of spiking. *HortScience*, 30 (1), 59–61. (1995).
3. CHEN, F. C., KASTHURI, G. M., TSAI, Y.J., HUANG, J.Z., LEE, W.L., ROY

- Y.H. LUO, CHIANG, S.F., CHEN, Y.H., CHENG, T.C. and GEORGE, M.M. Approaches and perspectives towards molecular breeding of orchids. In: Proc. International Orchid (*Paphiopedilum* and *Phalaenopsis*) Symposium 2005, Taiwan. 89-117. Taiwan Orchid Growers' Association, Tainan, Taiwan (2005).
4. SETIAWAN, S. Keragaman fenotip plantlet anggrek bulan putih *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume hasil iradiasi sinar gamma. Tesis S2 Biologi UGM. 60 (2008).
5. SUN, X., ZHANG, T. and LIU, X. Study on the radiation of the (60)Co γ -ray for variation induction in *Phalaenopsis aphrodite* by Using of RAPD-PCR Technique. [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin 1 (038). 31-36 (2009).
6. WIDIARSIH, S. dan DWIMAHYANI, I. Laju pertumbuhan anggrek bulan pada fase aklimatisasi dan vegetatif awal pasca iradiasi gamma. Prosiding Seminar APISORA di PATIR-BATAN Jakarta, 27-28 September 2010, 143-152 (2010).
7. DARMONO, W. Menghasilkan Anggrek Silangan. Penebar Swadaya. Jakarta (2003).
8. ISWANTO, H. Anggrek *Phalaenopsis*. AgroMedia Pustaka. Jakarta (2001).
9. BALITHI. Panduan karakterisasi anggrek. 36 hal. <http://balithi.litbang.deptan.go.id/siplasmaok/referensi/Pand%20Karakter%20Anggrek.pdf> (2007).
10. TSAI, W.C., HSIAO, Y.Y., PAN, Z.J., HSU, C.C., YANG, Y.P., CHEN, W.H. and CHEN, H.H. Molecular biology of orchid flowers: with emphasis on *Phalaenopsis*. 99-144. Advances in Botanical Research. Vol 47. Incorporating Advances in Plant Pathology. Elsevier Ltd. (2008).
11. GOH, C.J., and ARDITTI, J. Orchidaceae. In Handbook of Flowering. (Ed) Halevy AH (CRC Press, Boca Raton, FL), 309-336 (1985).
12. CHEN, W.S., LIU, H.Y., LIU, Z.H., YANG, L. and CHEN, W.H. Gibberellin and temperature influence carbohydrate content and flowering in *Phalaenopsis*. *Physiol. Plant.* 90, 391-395 (1994).
13. BLANCHARD, M.W. and RUNKLE, E.S. Temperature during the day, but not during the night, controls flowering of *Phalaenopsis* orchids. *J. Exp. Bot.* 57 (15), 4043-4049 (2006).
14. GLOVER, B. Understanding flowers and flowering: an integrated approach. Oxford University Press. 277 (2007).
15. ARDITTI, J. Fundamentals of orchid biology. John Wiley & Sons, Inc, New York. (1992).